

Szterilizált talaj benépesülése baktériumok mono- és vegyes- tenyésztésével

TIMÁR M. ÉVA

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

A lebontást végző mikrobiális életközösségek esetében a biotikus kölcsönhatások vizsgálatának jelentőségét elfedi az a tény, hogy a talajflóra diverzitásának és széles skálájú alkalmazkodó képességének következtében, látszólag csak a hőmérsékleti és nedvesség viszonyok valamint ezek kölcsönhatásai limitálják a mineralizációs folyamatokat. Az elméleti jelentőségen kívül a lebontó flóra tápanyagát képező szerves hulladékok minőségi- és mennyiségi átrendeződése a civilizációs hatások következtében, előtérbe helyezik a lebontását végző mikrobiális életközösségek szerveződésének és kölcsönhatásainak jobb megismerését.

A kérdés tanulmányozásánál — egyéb módszerek mellett — azok az eljárások is felhasználhatók, melyek részlegesen, vagy teljesen szterilizált talajok rekolonizációjának sajátosságait vizsgálják.

Biocid hatásokat követő rekolonizáció eredményeként a talajok biológiai aktivitása nő (O_2 -fogyasztás, CO_2 -képződés, mineralizálható N mennyiség). POWLSON és munkatársai [5] megállapították, hogy a kiszáradásnak vagy átfagyásnak kitett talajok ilyen tekintetben hasonlóan viselkednek, mint a vegyszeres kezelést, vagy biocid besugárzást szenvedett minták, bár az aktivitás növekedésének mértéke — a flush — függ a biocid hatás minőségétől. A flush okait illetően az irodalom nem egységes. JENKINSON [2] három csoportba sorolja ezeket a nézeteket: 1. Kezeletlen talajban az életközösségekben működő fajok egymás populáció nagyságát limitáló hatására a mikrobiológiai aktivitás alacsonyabb, mint a szterilizálás után még alakulóban levő közösségek esetében. 2. A szterilizálás hozzáférhetővé tesz olyan — egyébként biológiailag hasznosítható — anyagokat, melyek normál talajkörülmények esetében védve vannak a hasznosítástól. 3. Szterilizálás hatására a nem felvehető tápanyagok egy része felvehetővé válik és az elhalt biomassa is táplálékot jelent az újra szerveződő életközösségek számára.

Sokoldalú vizsgálatok eredményeként JENKINSON és munkatársai [2] megállapították, hogy részleges szterilizálás esetében (kloroformmal gőzölt talaj) a biológiai aktivitás növekedését nagyrészt a tápanyag mennyiségének növekedése okozza.

A felvetett kérdésekkel kapcsolatosan, jelen vizsgálatok keretében arra kívántunk választ kapni, hogy autoklávban szterilizált csíra mentes talaj és

ugyanígy kezelt, szervesanyaggal dúsított talaj, monokultúrával és talajszuszpenzió formájában vegyes kultúrával történő rekolonizációja során hogyan alakul a csíraszám, a nem sterilizált mintához viszonyítva.

Anyag és módszer

Talaj:

A vizsgálatnál egy csernozjom barna erdőtalaj felső rétegéből (A_{sz} -szint) származó mintát használtunk. A talajminta fontosabb adatai: Arany-féle kötöttség; 63, fizikai homok és agyag aránya: 37,4 : 62,6; $CaCO_3$ %: 1,3; összes só %: 0,070; pH: 7,6; szervesanyag C %: 1,99; összes nitrogén mg %: 182,5; felvehető nitrogén mg %: 1,73; foszfor (Olsen-féle mg %: 2,6, K_2O mg % 28,8).

Minták előkészítése, sterilizálása:

A mintát — begyűjtés után — szobahőmérsékleten kiszárítottuk, majd a látható növényi maradványokat eltávolítottuk. Zúzást követő szitálás után kb. 4—5 hónapig tároltuk a talajt szobahőmérsékleten, ezután az alábbi kezeléseket megfelelően készítettük elő a mintákat: 1. Kontroll minta/talaj nedvesítve; 2. Sterilizált minta *Enterobacter cloacae* monokultúráját is tartalmazó talajszuszpenzióval rekolonizálva; 3. Sterilizált minta *E. cloacae* monokultúráját tartalmazó szuszpenzióval rekolonizálva. Az így kezelt minták csíraszámát az inkubáció 12., 36. és 56. napján, az 1. táblázat ismerteti. A 2. táblázat sterilizálás és szervesanyag adagolás együttes hatásának eredményeit tünteti fel. Kontrollként nem sterilizált és szervesanyaggal dúsított, valamint sterilizált és rekolonizált minták csíraszámait vettük figyelembe. A növekedés mértékét

1. táblázat

Kezeletlen, sterilizált és vegyes, illetve monokultúrával rekolonizált talajminta csíraszámának alakulása a kezeléstől függően, és az inkubációs idő folyamán

(1) Kezelés		(2) Idő, nap		
		12	36	56
		(3) csíraszám		
A) Nedvesített kezeletlen kontroll		76	123	45
B) Sterilizált talaj <i>E. cloacae</i> -t is tartalmazó vegyes flórával visszaoltva	Össz csíra szám	537	513	331
	<i>E. cl.</i> csíra- szám	41,7	5,5	5,6
C) Sterilizált talaj <i>E. cloacae</i> monokul- túrával visszaoltva		3162	1738	1660

1 g légszáraz talaj csíraszámát az adatok 10^4 szorzata jelenti.

2. táblázat

Szervesanyag adagolás hatása sterilizált és rekolonizált minták kontrollhoz viszonyított csíraszám-növekedésére a kísérleti idő 36. napján

(1) Sterilizálás, rekolonizáció	(2) Szervesanyag		
	(3) Kontroll (talaj nedvesítve)	(4) 200 mg burgonya	10 mg glukóz
	(5) Csíraszám növekedési aránya a csak nedvesített kontrollhoz viszonyítva		
A) Kontroll (talaj nedvesítve)	1*	90,3	2,0
B) Sterilizált és talajszuszpenzióval rekolonizált	9,8	146,5	59,6
C) Sterilizált és <i>Enterobacter cloacae</i> -val rekolonizált	108	1606,5	112

* 1 = $10^4 \cdot 16$ csíra 1 g légszáraz talajban.

a kezeletlen kontroll csíraszámaihoz viszonyítottuk. Az 5 g száraz súlyú mintákhoz, 200 mg száraz anyagsúlynak megfelelő hámozott nyers burgonya szeletet, illetve 10 mg glukózt adtunk.

A burgonyával dúsított minták esetében a talajt, a már burgonyát tartalmazó csőbe tettük és nedvesítésnél figyelembe vettük ennek víztartalmát. A sterilizálás autoklávban, 2 atm. nyomáson, 30 percig tartott. A csíramentesítést lemezöntéssel módszerrel ellenőriztük. A szervesanyaggal dúsított minták közül a glukózzal kezelték esetében a talaj sterilizálása után juttattuk be a szervesanyagot.

Rekolonizáció

A vegyes szuszpenzióval történő rekolonizálás esetében a tárolt talajból 5 g talajt nedvesítés után 8–10 napig inkubáltunk. Ezután 1 : 10 arányú szuszpenziót készítettünk. 25 perces rázatás után a szuszpenzió 1/2 ml alikvotjait csöpögtettük a leírt módon előkészített mintákra. Az *Enterobacter cloacae* NCTC 10006 törzsét TBG táptalajon (leírást lásd később) ferde agaron, kémcsőben tenyésztettük és 2–3 napos inkubációs idő után, az oltókaccsal leválasztott sejteket steril vízbe szuszpendáltuk, ráztattuk és ezután 1/2 ml alikvotokat juttattunk a mintákra. A vegyes florával történő rekolonizálás az 1. táblázatban ismertetett vizsgálatoknál $10^4 \cdot 36$ és a 2. táblázatban $10^4 \cdot 22$ csírát tartalmazó talajszuszpenzióval történt 5 gr légszáraz talajra vonatkozóan. A monokultúra szuszpenziójának formájában az 1. táblázat esetében $10^4 \cdot 216$ és a 2. táblázat esetében $10^4 \cdot 77$ csíra bevitelét kell figyelembe venni 5 gr légszáraz talajra vonatkozóan.

Az előkészítő munkák befejezésekként, mindegyik kezelés víztartalmát azonosra — a talajvízkapacitásának 60%-ára — állítottuk be. Ez a művelet egyidejűleg történt a steril talajok visszaoltásával és ez jelentette a kísérleti idő 0-pontját.

Inkubáció

A mintákat 28 °C termosztátban tartottuk és gondosan ügyeltünk arra, hogy a párolgásból származó vízveszteségek ne haladják meg a 0,5 g-ot. Más kísérletssorozatban megállapítottuk, hogy ennél nagyobb mértékű vízveszteség rontja az adatok reprodukálhatóságát.

Csíraszám meghatározás

Mintavételkor — steril körülmények között — többszörös átmosással, Erlenmyaer lombikba vittük át a kezelt mintát, ismert térfogatú steril vízbe. 25 perces rázatás után a szuszpenzióból hígítási sort készítettünk, és ebből alikvotokat vittünk rá TBG tápagar lemez felületére.

TBG-táptalaj összetétele: 1 : 2 arányú talaj: víz szuszpenzió, 1,5 atm. nyomáson, autoklávban 20 percig főzve; 1 : 8 arányú burgonya:víz, főzve. A két szuszpenzió együttes szűrletének 1 liternyi mennyisége 0,5 g(NH₄)₂SO₄-ot, 0,5 g K₂HPO₄-et és 2 g NaCl-t, valamint 20 g agart tartalmazott.

Sterilizálás 1,5 atm. nyomáson, 20 percig.

A kezeletlen kontroll minta kivételével — ahol csak 5 tagú hígítási sorozatot készítettünk — 8 tagú sorozatokkal dolgoztunk, és az első tag kivételével mindegyikből három lemez készült. A lemezeken kifejlődött telepeket két napos inkubációs idő után számoltuk meg.

Az *E. cloaceae*-t is tartalmazó talajszuszpenzióval rekolonizált minták értékelésekor, az első mintavétel kivételével, az *E. cloaceae* telepeket szabadszemmel megfigyelhető morfológiai jellemzői alapján határoztuk meg.

Az első mintavételkor fiziológiai vizsgálatokkal ellenőriztük szabadszemmel tett megfigyeléseink helyességét.

Kísérleti eredmények megbízhatósága

Egy kezelés, egy időpontban mért csíraszámait, 9 párhuzamos minta mértani középértéke tünteti fel. Ez 3 azonosan kezelt mintából készült hígítási sorozatok egyenként három ismétléses adatainak felhasználását jelenti.

A matematikai statisztikai számításokat az adatok logaritmus transzformációval átalakított értékeiből végeztük.

A variancia analízis eredményei szerint az 1. és 2. táblázatokban feltüntetett adatok, a kezelések hatása és az idő függvényében is szignifikánsak. Ez alól kivételt képeznek az 1. táblázatban a vegyesflórával visszaoltott talaj 12. és 36. napon mért csíraszámok, valamint ugyanennek a kezelésnek az *E. cloaceae* csíraszámára vonatkozó 36. és 56. napi adatai.

Az adatok közötti különbségek szignifikáns aránya az 1. táblázatnál 1,45 a 2. táblázatnál 1,59.

A lemezöntéses módszerrel végzett csíraszámlálás alkalmazhatósága a kérdés vizsgálatánál

A összcsíraszám mennyisége mind tápanyag hozzáadásra, mind pedig a konkurrencia viszonyok populáció nagyságokat limitáló hatásainak csökkenése következtében nő. A flush jelenségekkel foglalkozó vizsgálatok a csíraszámok alakulását illetően sem egységesek. McLAREN [4], valamint JENKINSON [1]

korábbi vizsgálatai lemezöntéses módszerrel a csíraszám növekedését állapították meg biocid kezelést követő visszaoltások után a talajmintákban, addig JENKINSON [3] későbbi munkájában direkt mikroszkópos megfigyeléssel, kisebb értéket (1/5) kapott, mint a kezeltlen minta csíraszám. A jelenség okát azzal magyarázzák, hogy a lemezöntéses módszerrel az össz-flórának csak egy része figyelhető meg, és a flush-sal párhuzamosan mért magas csíraszámok is csak a biocid kezelés során felszabaduló tápanyagokat jól hasznosító fajokat mutatják ki, tehát a módszer erősen torzítja a valóságos viszonyokat.

Ilyen értelemben vizsgálataink eredményei is torzított képet adnak. A torzítás azonban a kontroll és kezelt mintákra egyaránt vonatkozik, így véleményünk szerint értékelhető és reális képet nyújt a mikroflóra egy részének viselkedéséről.

Kísérleti eredmények és értékelésük

Az 1. táblázat adataiból látható, hogy a sterilizálás hatására kialakuló környezeti körülmények az *Enterobacter cloacae* számára $10^4 \cdot 1737$ csíraszámú populáció nagyság kialakulását teszik lehetővé, a vizsgálati idő 12. napján. Egy másik kezelésnél, ahol a tápanyagtartalom, nedvesség és egyéb fizikai körülmények teljesen megegyeznek, de a rekolonizáció *E. cloacae*-t is tartalmazó vegyes flórával történt, az *E. cloacae* részaránya csak $10^4 \cdot 41,7$ a 12. napon és ez az arány is gyorsan csökken az inkubációs idő folyamán. Így egyértelműen megállapítható, hogy az *E. cloacae* csíraszámát nem a tápanyagtartalom limitálja, hanem a vegyesflóra jelenlétében kialakuló versengő viszonyok.

Ennek a ténynek alapján feltételezhető, hogy a sterilizés hatására megváltozott környezeti viszonyok nemcsak az *E. cloacae*, hanem más — jellegzetesen talajban élő — baktérium monokultúrák tenyésztése esetén is hasonló nagyságrendű populációs nagyság kialakulását biztosítják. Ezért a vegyes flórával rekolonizált talaj a kontrollhoz viszonyított 7-szer magasabb csíraszám is inkább tulajdonítható a konkurencia viszonyokból származó limitáló hatások csökkenésének, mint a sterilizés tápanyagtartalom növelő hatásának.

A 2. táblázat a kezeltlen kontrollhoz viszonyított csíraszám növekedéseket mutatja be, sterilizálás, szervesanyag adagolás és a két tényező együttes hatásának következtében. Az adatokból látható, hogy 40 mg/g talaj szárazanyag-súlyú burgonya, illetve 2 mg/g talaj glükóz adagolás esetében is a pusztán sterilizés hatására létrejövő változások jól felismerhetők.

A sterilizálás és burgonya adagolás a rekolonizált minták közül a monokultúra esetében 1606-szorosan, a vegyeskultúra esetében 146-szorosan magasabb csíraszám kialakulását biztosította. A csupán sterilizált kezelésekhez (mono- és vegyeskultúrával visszaoltott steril talaj) viszonyítva az emelkedés mindkét esetben 14-szeres. Ennek alapján feltételezhető, hogy a vegyestenyészettel rekolonizált mintában a burgonya jelenléte nem befolyásolta a sterilizálás és visszaoltás következtében az életközösségen belül kialakult viszonyokat.

A sterilizált és rekolonizált mintákhoz viszonyított 14-szeres növekedéssel szemben, a nem sterilizált talaj csíraszám, burgonya adagolás hatására 90-szeresére emelkedik, vagyis a sterilizálás a burgonya adagolás hatékonyságát rontja. Glükóz esetében a nem sterilizált minta csíraszám a kezeltlen

kontrolléhoz viszonyítva kétszeresére emelkedik. Sterilizálás és vegyes kultúrával történő rekolonizáció hatására az emelkedés 50-szeres. Az utóbbi adatok a két tényező (sterilizálás + glükóz adagolás) pozitív kölcsönhatását jelentik. Valószínűnek látszik, hogy a kisebb mennyiségű, de egyoldalúan csak széntartalmú tápanyagot képviselő glükóz hasznosítását, a sterilizés következtében szabaddá váló egyéb tápelemek kedvezően befolyásolják. A glükóz adagolás monokultúrával rekolonizált minta esetében nem befolyásolta a csíraszám nagyságát.

E vizsgálatok során nyert adatok rámutatnak arra, hogy a biológiai folyamatok számára kedvező környezeti körülmények önmagukban nem határozzák meg a lebontó flóra nagyságát, hanem a mikrobiális életközösségeken belül kialakuló biotikus kölcsönhatások is jelentős szerepet visznek a csíraszám kialakításában.

Összefoglalás

Sterilizálás után vizsgáltuk mono, és a monokultúrát is tartalmazó vegyes kultúrával (talajszuszpenzió) rekolonizált talajminta csíraszámának változását.

Lemezöntéssel használva, a sterilizálás hatására kialakuló környezeti viszonyok a monokultúra számára 10^7 , a vegyes tenyészet számára 10^6 nagyságrendű csíraszám kialakulását biztosították a kontroll 10^5 értékével szemben. Az *Enterobacter cloacae*-t is tartalmazó vegyesflórával rekolonizált mintában a vegyesflóra biotikus kölcsönhatásainak következtében az *E. cloacae* csíraszám csak 10^5 nagyságrendet ért el a 12. napon és ez az érték az 56. napon 10^4 -értékre csökkent. A kontroll és a vegyesflórával rekolonizált minták csökkenése a 12. és 56. napok között a kialakult csíraszámok nagyságrendjén belül maradt.

Szervesanyag (200 mg burgonya, illetve 10 mg glükóz, 5 g talajban) adagolás esetén, a csupán sterilizálás hatására kialakuló változások jól felismerhetők, de a szervesanyag minőségétől és mennyiségétől függően is változott a csíraszámok nagysága.

Míg a sterilizált kontrollokhoz viszonyítva a különböző minőségű tápelemeket egyaránt tartalmazó, nagyobb adagú szervesanyag (burgonya) a mono, illetve vegyeskultúrával rekolonizált mintákban azonos arányban növelte a csíraszámot, addig a kisebb adagú glükóz csak a vegyesflórával rekolonizált minta csíraszámát emelte és a monokultúra populáció nagyságát nem befolyásolta.

A burgonya adagolás és sterilizálás együttes hatására a kezeletlen kontrollhoz viszonyított 9,8-szoros, illetve a monokultúra esetében 107-szeres növekedés burgonya adagolás esetében 1,6-ra, illetve 17-szeresre csökkent. A glükóz esetében a sterilizálás a vegyes kultúra csíraszámát a kontroll 9,8 értékével szemben 27-szeresére növelte.

E vizsgálatok során nyert adatok rámutatnak arra, hogy a biológiai folyamatok számára kedvező környezeti körülmények önmagukban nem határozzák meg a lebontó flóra nagyságát, hanem a mikrobiális életközösségeken belül kialakuló biotikus kölcsönhatások is jelentős szerepet visznek az összes csíraszám kialakításában.

Irodalom

- [1] JENKINSON, D. S.: Studies on decomposition of plant material in soil II. Partial sterilization of soil and soil biomass. *J. Soil Sci.* **17**. 280—302. 1966.
- [2] JENKINSON, D. S. & POWLSON, D. S.: The effects of biocidal treatments on metabolism in soil V. A method of measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* **8**. 209—213. 1976.
- [3] JENKINSON D. S., POWLSON D. S. & WEDDERBURN R. W. M.: The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. III. The relationship between soil biovolume, measured by optical microscopy, and the flush of decomposition caused by fumigation. *Soil Biol. Biochem.* **8**. 189—202. 1976.
- [4] McLAREN, A. D.: Radiation as a technique in soil biology and biochemistry. *Soil Biol. Biochem.* **1**. 63—73. 1969.
- [5] POWLSON, D. S. & JENKINSON, D. S.: The effect of biocidal treatments on metabolism in soil. II Gamma irradiation, autoclaving, air-drying and fumigation. *Soil Biol. Biochem.* **8**. 179—188. 1976.

Érkezett: 1978. február 14.

Recolonization of a Sterilized Soil with the Mono- and Mixed Culture Containing *Enterobacter cloacae*

É. TIMÁR

Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

Summary

After having sterilized the soil sample (horizon A of a tchernozem brown forest soil) in an autoclave, it was recolonized with the monoculture of *Enterobacter cloacae*, as well as with the mixed culture of a soil suspension containing *Enterobacter cloacae* suspension too, and the changes in the number of bacteria were determined.

For the determination of the number of bacteria the plate count method was used. As it is known the insufficiency of this method lies in the fact that the total bacterium flora can't be observed by it. As these insufficiency is valid for the treated and the untreated samples as well, the results are able to represent a real picture of a certain part of the bacterium flora.

The environmental conditions following the sterilization allowed the monoculture to produce a total number of bacteria of about 10^7 , the mixed culture to produce one of 10^6 , and the untreated sample one of about 10^6 . In the soil sample recolonized by the mixed culture containing *Enterobacter cloacae* as well, the bacterial number of *Enterobacter cloacae* reached as a consequence of the biotic interactions of the mixed culture only 10^5 on the 12th day of the incubation period. This value decreased to 10^4 by the 56th day. On the other hand the decrease of the total number of bacteria in the samples untreated or treated with mixed culture remained within the same order of magnitude between the 12th and 56th day of the incubation (Table 1.).

Adding some organic material (200 mg potatoes or 10 mg glucose to 5 g soil) the changes caused by sterilization alone could be observed well, but the bacterial numbers varied depending on the quality and quantity of the organic material.

The potatoes (containing different nutrients and used in bigger amounts) raised in equal proportion the bacterial number in the samples recolonized by mono- and mixed culture compared to the control sterilized only. While glucose used in smaller amounts raised only the bacterial number of the samples recolonized by the mixed culture and did not influence the bacterial number of the recolonization by monoculture.

As a consequence of the sterilization and the potato addition together the total bacterial number decreased to an 1,6 fold value compared with the 9,8 fold value when sterilization was used alone. In the case of the bacterial number of *Enterobacter cloacae* sterilization alone resulted in a 108 fold value, while sterilization together with potato-addition in a 17 fold value only. When glucose was added to the samples and sterilized

the total bacterial number of the mixed culture became a 28 fold value compared with the 9,8 fold value of the only sterilized samples (Table 2.).

These data point to the fact that the environmental conditions (temperature, nutrients, moisture content, etc.) advantageous for the biological processes do not determine alone the bacterial number of the decomposing flora. The biotic interactions developing within the microbial communities play also a significant role in its formation.

Table 1. Changes in the bacterial number of the untreated soil samples after sterilization and recolonization by a mono- and a mixed culture, resp. as a function of the incubation time. The bacterial number of 1 g air-dried soil is equal to the dates multiplied by 10^4 . Recolonization: to 5 g air-dried soil $36 \cdot 10^4$ bacteria were added as a soil suspension; and $216 \cdot 10^4$ bacteria as a suspension of *Enterobacter cloacae*, resp. The dates are significant when the difference is an 1,45 fold one. (1) Variants. (2) Time (days). (3) Bacterial number. A) Untreated, wetted control. B) Sterilized soil recolonized by a mixed culture containing *Enterobacter cloacae*. Total bacterial number. Bacterial number of *Enterobacter cloacae*. C) Sterilized soil recolonized by the monoculture of *Enterobacter cloacae*.

Table 2. Effect of organic material addition on the bacterial number of sterilized and recolonized soil samples (dates of the 36th day of incubation period). Recolonization: to 5 g air-dried soil $22 \cdot 10^4$ bacteria were added as a soil suspension; and $77 \cdot 10^4$ bacteria as a suspension of *Enterobacter cloacae*, resp. The data multiplied by $16 \cdot 10^4$ are significant when the difference is an 1,59 fold one. (1) Sterilization, recolonization. (2) Organic material: (3) Control (wetted soil); (4) 200 mg potatoes. (5) Ratios of bacterial number changes, $x = 16 \cdot 10^4$ bacteria in 1 g air-dried soil. A) Control, wetted soil; B) Sterilized soil recolonized by a mixed culture containing *Enterobacter cloacae*. C) Sterilized soil recolonized by the monoculture of *Enterobacter cloacae*.

Rekolonisierung eines sterilisierten Bodens mit der Mono- sowie Mischkultur mit *Enterobacter cloacae*

É. TIMÁR

Forschungsinstitut für Bodenkunde und Agrikulturchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

Zusammenfassung

Nach einer im Autoklaven erfolgten Sterilisation wurden die Änderungen in der Bakteriumzahl der mit einer Mono-, und einer die Monokultur auch enthaltenden Mischkultur (Bodensuspension) rekolonisierten Bodenproben (Horizont A eines Tschernosjom-Braunenwaldbodens) mit der Plattengussmethode bestimmt.

Da die bekannten Nachteile der Methode — d. h. dass sie die Ermittlung der gesamten Bodenflora nicht ermöglicht — sowohl bei der Kontrolle, wie auch bei den behandelten Proben vorhanden sind, können die Ergebnisse für einen Teil der Mikroflora für real angenommen werden.

Bei den durch die Sterilisation entstandenen Umweltbedingungen war für die Monokultur die Ausbildung einer gesamten Bakteriumzahl in der Grössenordnung von 10^7 , für die Mischkultur eine in der Grössenordnung von 10^6 , für die Kontrollprobe hingegen eine in der Grössenordnung von 10^5 zu beobachten. In der mit der die Monokultur beinhaltenden Mischkultur rekolonisierten Probe erreichte die Bakteriumzahl der Monokultur (*Enterobacter cloacae*) als Folge der biotischen Wechselwirkung der Mischkultur am 12. Tag der Inkubationsdauer nur 10^5 und diese Zahl sank bis zum 56. Tag auf 10^4 herab. Die Abnahme der Bakterienzahl der unbehandelten Kontrolle und der mit Mischkultur rekolonisierten Proben blieb zwischen dem 12. und 56. Tag der Inkubation in derselben Grössenordnung (Tab. 1.).

Bei Zugabe von organischem Stoff (200 mg Kartoffeln, bzw. 10 mg Glukose zu 5 g Boden) wurden die Veränderungen als Folge der Sterilisation noch deutlicher, die Höhe der Bakteriumzahlen änderte sich aber mit der Menge und der Qualität des organischen Stoffes.

Die Bakteriumzahl wurde nämlich in Anwesenheit des in grösseren Mengen angewendeten und verschiedene Nährstoffe enthaltenden organischen Stoffes (Kartoffeln)

sowohl in den mit Mono-, als auch mit Mischkultur rekolonisierten Proben im Vergleich zu der sterilisierten Kontrolle gleichsam erhoben, während der in kleineren Mengen gegebene organische Stoff (Glukose) nur in den letzteren einen Anstieg verursachte.

Verglichen mit der befeuchteten Kontrolle bewirkte die Sterilisation einen 9,8fachen Aufschwung der Bakteriumzahl bei Rekolonisierung mit Mischkultur und einen 108fachen bei Impfung mit Monokultur. Die Bakterienzuwächse mit der Kartoffeln enthaltenden Kontrolle verglichen waren nur 1,6-, bzw. 17fach. In Falle von Glukoseanwendung wurde die gesamte Bakterienzahl durch Sterilisation und Rekolonisierung mit Mischkultur auf das 28fache erhoben (während die Sterilisation allein, ohne Glukosegabe die Werte der befeuchteten Kontrolle nur auf ein 9,8faches steigerte).

Diese Angaben zeigen, dass die Grösse der Abbauflorea nicht nur durch die günstigen Umweltverhältnisse, sondern auch durch die in den Mikrobencoenosen entstandenen biotischen Wechselwirkungen bedingt werden.

Tab. 1. Änderungen in der Bakteriumzahl der unbehandelten Bodenprobe nach Sterilisierung und Rekolonisierung mit einer Mono- bzw. Mischkultur als Funktion der Inkubationsdauer. Die Bakteriumzahl von 1 g lufttrockener Bodenprobe wird durch das 10^4 fache der Daten angegeben. Rekolonisierung: 5 g lufttrockenem Boden wurden $36 \cdot 10^4$ Bakterien in einer Bodensuspension, und $216 \cdot 10^4$ Bakterien in einer Suspension von *Enterobacter cloacae* hinzugefügt. Die Angaben sind signifikant im Falle einer 1,45fachen Differenz. (1) Varianten. (2) Zeit (Tage). (3) Bakterienzahl. A) Unbehandelte, befeuchtete Kontrolle. B) Sterilisierter Boden rekolonisiert mit einer *Enterobacter cloacae* enthaltenden Mischkultur. Gesamte Bakterienzahl. Bakterienzahl von *Enterobacter cloacae*. C) Sterilisierter Boden rekolonisiert mit einer Monokultur von *Enterobacter cloacae*.

Tab. 2. Einfluss der Zugabe von organischem Stoff auf die Bakterienzahl der sterilisierten und rekolonisierten Bodenproben. (Die Angaben beziehen sich auf den 36sten Tag der Inkubationsperiode.) Rekolonisation: 5 g lufttrockenem Boden wurden $22 \cdot 10^4$ Bakterien in einer Bodensuspension, und $77 \cdot 10^4$ Bakterien in einer Suspension von *Enterobacter cloacae* hinzugefügt. Das $16 \cdot 10^4$ fache der Daten ergibt signifikante Werte im Falle einer 1,59fachen Differenz. (1) Sterilisierung, Rekolonisierung. (2) Organischer Stoff: (3) Kontrolle (befeuchteter Boden); (4) 200 mg Kartoffeln. (5) Verhältniszahlen der Bakterienzahländerungen, $\ast = 16 \cdot 10^4$ Bakterien in 1 g lufttrockenem Boden. A) Kontrolle (befeuchteter Boden); B) Sterilisierter Boden rekolonisiert mit einer *Enterobacter cloacae* enthaltenden Mischkultur. C) Sterilisierter Boden rekolonisiert mit einer Monokultur von *Enterobacter cloacae*.

Реконизация стерильной почвы моно- и смешанными бактериальными культурами

Е. ТИМАР

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии ВАН, Будапешт

Резюме

В образцах почвы (горизонт А черноземовидной бурой лесной почвы), стерилизованных в автоклаве, изучали формирование числа зародышей после реконизации почвы моно- и смешанной культурой (почвенная суспензия). Условия, создающиеся под влиянием стерилизации, обеспечили формирование числа зародышей для монокультуры размером в 10^7 , для смешанной культуры — 10^6 по сравнению с контролем, составляющим 10^5 . В образцах реконизированных смешанной флорой, содержащей и *Enterobacter cloacae*, в результате биотического взаимодействия смешанной флоры, число зародышей *Enterobacter cloacae* на 12 день достигло величины всего в 10^5 и эта величина на 56 день снизилась до 10^4 . Снижение в контрольных и реконизированных смешанной флорой образцах оставалось в пределах числа зародышей, образовавшихся в период между 12 и 56 днем.

При добавлении органического вещества (200 мг картофеля, или 10 мг гликозы на 5 г почвы (Табл. 1.), хорошо наблюдается изменение, проходящее только под влиянием стерилизации, а в зависимости от качества и количества органического вещества число зародышей изменяется.

При сравнении только со стерилизованным контролем (при одинаковом количестве питательных элементов различного качества) более высокие дозы органического вещества (картофель) увеличили число зародышей в образцах, реколонизированных моно- или смешанной культурой, в то время как незначительные дозы глюкозы увеличили число зародышей только в образцах, реколонизированных смешанной флорой и не оказали влияния на размеры популяции монокультуры.

Под совместным влиянием внесения картофеля и стерилизации, по сравнению с необработанным контролем, наблюдали 9,8 или в случае монокультуры 108-кратное увеличение, а в случае добавления картофеля — 1,6 или 17-кратное снижение. При добавлении глюкозы стерилизация в 28 раз увеличила число зародышей смешанной культуры, по сравнению с контролем, где наблюдали 9,8-разовое увеличение. (Табл. 2.)

Результаты, полученные в ходе исследований показывают, что благоприятные для биологических процессов окружающие условия сами по себе еще не определяют размеров разрушающей флоры, и биотическое взаимодействие, создающееся в микробальной жизни сообществ, играет значительную роль в формировании числа зародышей.

Табл. 1. Формирование числа зародышей в необработанных, стерилизованных и реколонизированных моно- или смешанной культурой почвенных образцах в зависимости от обработки, в продолжении инкубации. Число зародышей 1 г воздушно-сухой почвы означает произведение данных на 10^4 . (В процессе реколонизации в 5 г воздушно-сухой почвы в виде почвенной суспензии внесли 10^4 . 36; и в виде суспензии *Enterobacter cloacae* — 10^4 . 216 зародышей. Данные достоверны на уровне 1,45 — разового расхождения.) (1) Варианты: А) Увлажненный необработанный контроль. В) Стерилизованная почва реколонизированная смешанной флорой, содержащей *E. cloacae*; общее число зародышей и число зародышей *E. Cloacae*. С) Стерильная почва зараженная монокультурой *E. cloacae*. (2) Время, день. (3) Число зародышей.

Табл. 2. Влияние добавления органического вещества на увеличение числа зародышей в стерильной и реколонизированной почве, по сравнению с контролем, на 36 день опыта. В ходе реколонизации в 5 г воздушно — сухой почвы внесли зародышей в форме почвенной суспензии 10^4 . 22 и в форме суспензии *E. cloacae* — 10^4 . 77. Производные данных на 10^4 . 16 достоверны в случае 1,59-разовых расхождений. (1) Стерилизация, реколонизация: А) Контроль (увлажненная почва). В) Стерилизованная и реколонизированная почвенной суспензией. С) Стерилизованная и реколонизированная *E. cloacae*. (2) Органическое вещество. (3) Контроль (увлажненная почва). (4) 200 мг картофеля. (5) Увеличение соотношения числа зародышей по сравнению с контролем.